

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-112785

(P2002-112785A)

(43)公開日 平成14年4月16日 (2002.4.16)

(51)Int.Cl.
C 12 N 15/09
A 01 H 5/00
C 12 N 5/10
9/00
// (C 12 N 5/10

識別記号
ZNA

F I
A 01 H 5/00
C 12 N 9/00
C 12 R 1:91)
(C 12 N 9/00
C 12 R 1:91)

テマコード(参考)
A 2B030
4B024
4B050
4B065

審査請求 有 請求項の数 8 OL (全 14 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000-307149(P2000-307149)

(71)出願人 598169457

奈良先端科学技術大学院大学長
奈良県生駒市高山町8916-5

(22)出願日 平成12年10月6日 (2000.10.6)

(72)

発明者 佐野 浩

奈良県生駒市鹿ノ台西 2-7-15

(72)発明者 草野 友延

奈良県奈良市富雄元町 2-7-12-203

(72)発明者 小泉 望

奈良県生駒市高山町8916-5 C505

(74)代理人 100072051

弁理士 杉村 興作 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 コーヒー属植物のテオプロミン合成酵素ポリペプチド及び当該ポリペプチドをコードする遺伝子

(57)【要約】

【課題】 カフェインレスコーヒーを得る為に、カフェインの生合成に関与する酵素を得る。

【解決手段】 本発明により、コーヒーラビカにおけるテオプロミン合成酵素のポリペプチド及び当該ポリペプチドをコードする遺伝子が与えられた。テオプロミン合成酵素はカフェインの生合成に関与する酵素であり、当該酵素の遺伝子発現を抑制した形質転換植物を作製することにより、カフェインレスコーヒーを得ることができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下の(a)または(b)に示すアミノ酸配列からなることを特徴とする、ポリペプチド。

(a) 配列表の配列番号1に示す、アミノ酸番号1-378で示されるアミノ酸配列からなることを特徴とする、ポリペプチド。

(b) 7-メチルキサンチンを基質としてテオプロミンを生合成する活性を有し、(a)のアミノ酸の一部が消失、置換若しくは付加された、ポリペプチド。

【請求項2】 請求項1記載のポリペプチドをコードする、遺伝子。

【請求項3】 以下の(c)または(d)に示す塩基配列からなることを特徴とする、遺伝子。

(c) 配列表の配列番号2に示す、塩基番号1-1298で示される塩基配列からなることを特徴とする、遺伝子。

(d) 7-メチルキサンチンを基質としてテオプロミンを生合成する活性を有するポリペプチドをコードし、

(c) の塩基配列の一部が消失、置換若しくは付加された、遺伝子。

【請求項4】 請求項2又は3記載の遺伝子の発現を抑制することにより、テオプロミンの生合成量が低下した、形質転換植物。

【請求項5】 請求項4記載の形質転換植物より採取した種子。

【請求項6】 請求項2又は3記載の遺伝子を導入することにより、テオプロミンの生合成量が増加した、形質転換植物。

【請求項7】 請求項6記載の形質転換植物より採取した種子。

【請求項8】 請求項2又3記載の遺伝子の発現を抑制することにより、テオプロミンの生合成量が低下した形質転換植物を作製する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、テオプロミン合成酵素のポリペプチド及び当該酵素をコードする遺伝子に関する。

【0002】

【従来の技術】コーヒーは、世界の至るところで愛好されている飲料であり、その有用性は非常に大きい。一方、コーヒーに含まれているカフェインは、コーヒーを過剰に摂取した場合に害を及ぼす原因となる物質である。カフェインはキサンチン誘導体の一類であり、キサンチン誘導体にはカフェインの他にテオフィリン、テオプロミンが含まれる。これらキサンチン誘導体は、ホスホジエステラーゼを阻害してcAMP量を増加させる事により、中枢興奮作用及び循環機能の亢進作用を有する事が知られている。キサンチン誘導体が有するこの様な作用は、適量の摂取では精神の高揚など有用に働くが、上述

した様に過剰量では有害となるために、カフェインレスコーヒーが世の中で広く求められていた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】カフェインレスコーヒーを得るためにカフェインの生合成を人为的に抑制する目的で、キサンチン誘導体の生合成に関与する遺伝子の採取が試みられてきた。図1 (Advances in Botanical Research, Vol.30, Academic Press (1999) p149より掲載) に、コーヒー属植物におけるカフェイン生合成の経路を示す。図1において、実線の矢印はカフェイン合成の主要経路を、点線の矢印はカフェイン合成のマイナーな経路を、それぞれ示す。図1の2段目に示される様に、キサンチンから7-メチルキサンチン、テオプロミンを経由してカフェインを生成する生合成経路が知られており、この経路はコーヒー属植物におけるカフェイン生合成の主要経路である。このカフェインの主要生合成経路の後半は3段階のN-メチル化反応であり、これらのN-メチル化反応はS-アデノシルメチオニン依存的な反応である事が知られている。7-メチルキサンチ

ンからバラキサンチンを経由してカフェインを合成する経路(図1の3段目)も存在しているが、この経路の寄与は大きなものではない。7-メチルキサンチンを合成する最初のメチル化反応については、当該反応を担う酵素の遺伝子が採取され、既に報告されている(国際公開番号 WO 97/35960)。しかし、第2段階、第3段階のメチル化反応に関与する遺伝子は、まだ知られていないかった。効率的かつ確実に、カフェインの生合成経路を操作するには、カフェイン生合成に関与する酵素の遺伝子について、より多くの知見を得る必要がある。

【0004】

【課題を解決するための手段】そこで、本発明者らはカフェインの生合成において、テオプロミンの生合成を担っている第2段階のメチル化反応に関与する酵素に注目し、当該酵素をコードする遺伝子の採取を行った。当該酵素は7-メチルキサンチンからテオプロミンを生合成する反応を触媒する酵素であるために、当該酵素の遺伝子の発現を抑制すると、テオプロミンの生合成が抑制される。カフェインの生合成経路において、テオプロミンのN-メチル化反応によりカフェインが生成するため

に、テオプロミンの生合成が抑制されると、カフェインの生合成もまた抑制される。上述した様に、テオプロミンとカフェインとは共にキサンチン誘導体として類似の薬理作用を有するために、テオプロミンとカフェインの両者の生合成を同時に操作できる酵素の遺伝子を採取する事には大きな意義がある。即ち、第3段階のメチル化反応に関与し、カフェインの最終的な生合成に関与する酵素をコードする遺伝子を採取してその発現を抑制すると、カフェインの生合成は抑制されるがテオプロミン量は減少せず、代謝が抑制される為に逆にテオプロミンが蓄積されると考えられる。よってテオプロミンがカフェ

インと類似の薬理活性を有している事を考えると、テオプロミン合成酵素の遺伝子を採取した本発明の効果は大きいと考えられる。

【0005】

【発明の実施の形態】本発明は、配列表の配列番号2に示す、塩基番号1-1298で示される塩基配列からなることを特徴とする、コーヒー・アラビカ (*Coffea arabica*) 由来のテオプロミン合成酵素遺伝子である。テオプロミン合成酵素は上述したように、コーヒー属植物において、7-メチルキサンチンを基質としてテオプロミンを合成する、メチル化反応を触媒する酵素である。配列表の配列番号2記載の塩基配列で示される遺伝子は、その様なテオプロミン合成酵素をコードする遺伝子である。

【0006】遺伝子組み換え技術によれば、基本となるDNAの特定の部位に、当該DNAの基本的な特性を変化させることなく、あるいはその特性を改善する様に、人為的に変異を起こすことができる。本発明により提供される天然の塩基配列を有する遺伝子、あるいは天然のものとは異なる塩基配列を有する遺伝子に関しても、同様に人為的に挿入、欠失、置換を行う事により、天然の遺伝子と同等のあるいは改善された特性を有するものとすることが可能であり、本発明はそのような変異遺伝子を含むものである。即ち、配列表の配列番号2に示す遺伝子の一部が欠失、置換若しくは付加された遺伝子とは、配列番号2に示す塩基配列において10個以下、好ましくは7個以下、更に好ましくは3個以下の塩基が欠失、置換若しくは付加された配列を有する遺伝子である。また、その様な遺伝子は、配列表の配列番号1に示す遺伝子と90%以上、好ましくは95%以上、更に好ましくは99%以上の相同性を有する。また、その様な遺伝子は、ストリンジントな条件下で、配列表の配列番号2に示す遺伝子とハイブリッドを形成する。その様な遺伝子も、7-メチルキサンチンを基質としてテオプロミンを生合成する、テオプロミン合成酵素の特徴を有するポリペプチドをコードする限り、本発明の範囲内である。

【0007】更に本発明は、配列表の配列番号1に示す、アミノ酸番号1-378で示されるアミノ酸配列からなることを特徴とする、コーヒー・アラビカ (*Coffea arabica*) 由来のテオプロミン合成酵素のポリペプチドである。配列番号1に示すポリペプチドの一部が欠失、置換若しくは付加されたポリペプチドとは、配列番号1に示すアミノ酸配列において10個以下、好ましくは7個以下、更に好ましくは3個以下のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された配列を有するポリペプチドである。また、その様なポリペプチドは、配列表の配列番号1に示すポリペプチドと90%以上、好ましくは95%以上、更に好ましくは99%以上の相同性を有する。その様なポリペプチドも、7-メチルキサンチンを基質としてテオプロミンを合成するというテオプロミン合成酵素

の特徴を有する限り、本発明の範囲内である。尚、配列表の配列番号3、配列番号5、配列番号7に示すポリペプチドは、コーヒー・アラビカ (*Coffea arabica*) から得られ、配列表の配列番号1のアミノ酸配列と80%の相同意を有するポリペプチドである。これら3つのポリペプチドは、配列表の配列番号1と高い相同意を有しているにも関わらず、テオプロミン合成酵素活性を示さなかった。

【0008】配列表の配列番号2記載のテオプロミン合成酵素遺伝子の発現を抑制し、テオプロミンの生合成量を低下させた形質転換植物もまた、本発明の範囲内である。本発明のテオプロミン合成酵素遺伝子は、上述した様にコーヒー・アラビカのテオプロミン生合成に関与する酵素をコードする遺伝子である。よって本発明の遺伝子の発現を抑制することにより、植物においてテオプロミンの生合成を抑制して、植物においてテオプロミンとカフェインの含量を低下させることができる。本発明のテオプロミン合成酵素遺伝子の発現を抑制する植物としては、コーヒー・アラビカ (*Coffea arabica*)、コーヒー・カネフォーラ (*Coffea canephora*)、コーヒー・リベリカ (*Coffea liberica*) 及びコーヒー・デウェブレイ (*Coffea dewevrei*) 等のコーヒー属植物が挙げられる。

【0009】それらの植物において、本発明の遺伝子の発現を抑制する事により、テオプロミンとカフェインの生合成を抑制することができる。遺伝子の発現を抑制する手段として、本発明の遺伝子のアンチセンス遺伝子を導入する方法を用いることができる。アンチセンス遺伝子とは、ある遺伝子を構成しているDNAの転写産物であるmRNAと、相補的な塩基配列を発現する遺伝子である。アンチセンス遺伝子の転写産物は、本来のmRNAと相補性を有するために、アンチセンス遺伝子は翻訳段階で遺伝子発現を抑制する。この技術を利用することにより、テオプロミン合成酵素遺伝子の発現を抑制することが可能である。

【0010】その他にも、遺伝子発現抑制の方法がいくつか知られている。目的遺伝子の遺伝子破壊により、目的遺伝子の発現を抑制する事ができる。また、植物においては、センス遺伝子を導入して過剰発現しても遺伝子干渉現象により目的遺伝子の発現が抑制される、というコサブレッション技術（トランスウィッチ技術）が知られており、その様な方法を用いても目的遺伝子の発現を抑制することができる。また、二本鎖RNAを用いるDouble-stranded RNA interference (RNAi) 法が遺伝子発現の抑制に有効であることが、近年言わせてきている (Chiu-Fen Chuang et al. PNAS (2000) vol. 97, 4985-4990)。二本鎖RNAは配列特異的に遺伝子発現を抑えるという事が、線虫やショウジョウバエを中心に明らかにされてきた。この様な二本鎖RNAを用いる方法がRNAi法

であり、本方法が線虫やショウジョウバエのみならず、

シロイヌナズナ等の植物でも有効であることが最近示されてきている。RNAi法により遺伝子発現が抑制される機構はまだ知られていないが、本法は上記のアンチセンス法に比べて効率良く遺伝子発現を抑制することができると言われている。

【0011】ところで、カフェイン、テオプロミン等のアリンアルカロイドは、昆虫忌避作用があり、それが植物にとってのアリンアルカロイドの意義であると考えられている。そこで、本発明の遺伝子を導入してテオプロミンの生合成を促進させる事により、昆虫忌避活性を有する植物体を作製することができる。本発明の酵素が、7-メチルキサンチンを基質としてテオプロミンを生合成する活性を担っていることを考えると、前述の7-メチルキサンチンを合成する酵素の遺伝子（国際公開番号 WO 97/35960）と共に本発明の遺伝子を植物に導入することは、特に有効であると思われる。7-メチルキサンチンを合成する酵素の活性が促進されると、本発明の酵素の基質が増加して、目的産物であるテオプロミンの蓄積が期待される。

【0012】形質転換体の作製方法としては、本技術分野において知られている通常の方法を用いる事ができる。本発明において使用可能なベクターはプラスミドベクターであり、例えばpBI121等が挙げられるが、それらに限定されるものではない。そのようなベクターを、例えばアグロバクテリウム菌に導入して、カルス又は幼植物に感染させることにより、形質転換植物を作製する事が可能であり、更に、そのような形質転換植物に由来する種子を得る事が可能である。本発明者らは特開2000-245485において、コーヒー属植物の胚発生カルスをアグロバクテリウムツメファシエンスEHA101に感染させることにより、高い効率で形質転換できる方法を報告しており、特開2000-245485に記載した形質転換方法は特に有用であると思われる。

【0013】

【実施例】（PCRによる增幅）一対のディジェネレート・オリゴヌクレオチド（Forward プライマー、GGITGYDS IDSIGGICCIAAYAC； Reverse プライマー、ARIYKIIYRTRR AAIISWICCIIGG）を、TCS1（Kato et al 2000, GenBank accession no. AB031280）と2つのシロイヌナズナの機能未知のタンパク質（Z99708及びAC008153）の間で保存された領域に基づいて合成した。これらのオリゴヌクレオチドは、GC(A/S)(A/S)GPNTと、PGSF(H/Y)(G/K)(R/N)L Fというアミノ酸配列に、それぞれ相当する。コーヒー・アラビカ（*Coffea arabica*）のcDNA及び上記の1組のプライマーを含む25μlの反応混合液中で、以下の条件下でPCRを行った。即ち、94°Cで1分間反応した後、94°Cで30秒間の変性反応、52°Cで30秒間のアニーリング、72°Cで1分間の伸長反応の繰り返しを30サイクル行い、更に72°Cで7分間の最終伸長反応を行うという条件で、PCRを行った。增幅された約270 塩基対のcDNA断片を用

10

20

30

40

50

いて、cDNAライブラリーのスクリーニングに使用した。【0014】（cDNAライブラリーの構築および目的cDNAのスクリーニング）コーヒー（*Coffea arabica*）の若い葉から全RNAを抽出し、oligo-dTカラム（Pharmacia）によりmRNAに精製した。ZAPII cDNA synthesis kit（Stratagene）を用いてmRNAからcDNAを合成し、λZAPIIベクターへ導入し、ファージライブラリーを作製した。上記の増幅された断片をプロープにcDNAライブラリーをスクリーニングした。得られたポジティブブラークをランダムに35ヶ選択し、プラスミドに変換した後、物理地図および部分シーケンシングを行ったところ、これらは4つの独立したクローンに帰属することが明らかとなつた。

【0015】それぞれの代表であり、もっとも全長cDNAに近いクローン#1、#6、#35および#45につき、その塩基配列を決定した。また、その塩基配列のオープンリーディングフレームによりコードされる、推定アミノ酸配列を決定した。図2に、シークエンシングを行った遺伝子配列を示す。クローン#45について得られたcDNAの塩基配列を、配列表の配列番号2及び図2Dに示す。当該遺伝子のオープンリーディングフレームは塩基番号32-1168であり、その領域によりコードされる推定アミノ酸配列を、配列表の配列番号1に示す。また、クローン#1について得られたcDNAの塩基配列を、配列表の配列番号4及び図2Aに示す。当該遺伝子のオープンリーディングフレームは塩基番号14-1171であり、その領域によりコードされる推定アミノ酸配列を、配列表の配列番号3に示す。また、クローン#6について得られたcDNAの塩基配列を、配列表の配列番号6及び図2Bに示す。当該遺伝子のオープンリーディングフレームは塩基番号44-1201であり、その領域によりコードされる推定アミノ酸配列を、配列表の配列番号5に示す。また、クローン#35について得られたcDNAの塩基配列を、配列表の配列番号8及び図2Cに示す。当該遺伝子のオープンリーディングフレームは塩基番号45-1163であり、その領域によりコードされる推定アミノ酸配列を、配列表の配列番号7に示す。以下、クローン#45をMXMT1と、クローン#1をMTL1と、クローン#6をMTL2と、クローン#35をMTL3と、遺伝子をそれぞれ命名した。

【0016】MXMT1、MTL1、MTL2、及びMTL3がコードするアミノ酸配列のアラインメントを比較した結果を、図3に示す。その結果、これら4つの配列の相同性が非常に高い事が示された。これらのポリペプチドの機能を確認するために、対応するクローンの遺伝子を大腸菌で発現させて、酵素活性の確認を行った。

【0017】（GST 融合タンパク質の発現）MTL1（クローン#1）、MTL2（クローン#6）、MTL3（クローン#35）およびMXMT1（クローン#45）のオープンリーディングフレームを含む領域をPCR(polymerase chain r

eaction)で増幅し、それらをpGEX 4T-2 ベクター(Pharmacia)へ適宜クローニングし、大腸菌(JM109)を形質転換した。得られた大腸菌をアンビシリンを含むLB液体培地で培養後、OD600が0.5に達した後、終濃度が1mMになるようにIPTG(isopropyl thio- β -D-galactoside)を加え、さらに16°Cで6時間培養した。大腸菌を超音波破碎し、グルタチオン・セファロース担を用いてGST(glutathione S-transferase)融合タンパク質として精製した。タンパク質濃度はBradford法により測定した。各GST融合タンパク質(500 ng)をSDS-PAGE(ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動)で分離した後にCBB(クマシーブリリアンドブルー)染色をおこない、精製されたことを確認した。得られたGST融合タンパク質につき、SDS-PAGEにより純度を解析した結果を図4に示す。図4において、レーン1はMTL2由來の融合蛋白質を、レーン2はMTL3由來の融合蛋白質を、レーン3はMXMT1由來の融合蛋白質をそれぞれ示す。その結果、得られた3つの融合蛋白質はほぼ純粋であることが示された。

【0018】(薄層クロマトグラフによる酵素活性の測定)薄層クロマトグラフ(TLC)により、酵素活性の測定を行った。加藤ら(Plant Physiol., 1996, 98, 629-636)の方法に基づき、酵素活性の測定を行った。具体的には100μlの反応液(100 mM Tris-HCl(pH7.5)、200μMの基質(キサンチン、7-メチルキサンチン、テオプロミン、バラキサンチン、テオフォリン)、4μM ¹⁴C標識S-アデノシルメチオニン、200μM MgCl₂、200 ng GST融合タンパク質)を27°Cで2時間反応後、1 mlのクロロホルムで抽出し、クロロホルム層を回収し、スピードバックコンセントレーターでクロロホルムをとばした。5μlの50%メタノールに溶解後、TLCで展開した(展開溶媒は水:酢酸:n-ブタノール=2:1:4, v/v/v)。展開後、画像解析装置(FujiBAS2000)で放射能シグナルを検出した。キサンチン(X)、7-メチルキサンチン(7-Mx)、テオプロミン(Tb)、バラキサンチン(Px)、テオフォリン(Tp)を基質として、MTL2、MTL3及びMXMT1由來の融合蛋白質の酵素活性を測定した結果を、図5に示す。図5よりMXMT1由來の融合蛋白質は、7-メチルキサンチンを基質としてテオプロミンを合成する強力な活性を有していた。MXMT1由來の融合蛋白質は、バラキサンチンを基質としてカフェインを合成する活性も有していたが、その相対活性は前述の活性の15%であった。一方、MTL2及びMTL3由來の融合蛋白質は、上記の化合物を基質として用いてメチル基転移活性を示すことはなかった。

*

* 【0019】(高速液体クロマトグラフによる酵素活性の測定と生産物の同定)高速液体クロマトグラフ(HPLC)により、MXMT1の融合蛋白質の酵素活性の測定と、酵素反応による酵素反応生産物の同定を行った。100μlの反応液(100 mM Tris-HCl(pH7.5)、200μMの基質(7-メチルキサンチン、バラキサンチン、テオプロミン)、50μM S-アデノシルメチオニン、200μM MgCl₂、200 ng GST融合タンパク質)を27°Cで2時間インキュベート後、1 mlのクロロホルムで抽出し、クロロホルム層を回収し、スピードバックコンセントレーターでクロロホルムをとばした。50μlの12%アセトニトリルに溶解後、UV検出系を備えたHPLC(Shodex RSpak DS-613 column)で分画した。展開溶媒は12%のアセトニトリルを用い、A₂₅₄でシグナルを検出した。

【0020】その結果を、図6に示す。図6 Aは、MXMT1の融合蛋白質を、S-アデノシルメチオニンと7-メチルキサンチンを基質と反応させ、その反応産物をHPLCで解析したチャートである。図6 Bは、標品としてテオプロミンをHPLCで解析したチャートである。図6 Cは、ネガティブコントロールとして、MXMT1の融合蛋白質、S-アデノシルメチオニン、7-メチルキサンチンを混合した後にすぐに反応を止め、その混合液をHPLCで解析したチャートである。図6 Dは、標品として、7-メチルキサンチン、テオプロミン、バラキサンチン、カフェインをHPLCで解析したチャートである。図6 Eは、S-アデノシルメチオニンと7-メチルキサンチンをMXMT1の融合蛋白質と反応させた反応液に、テオプロミンを添加してHPLCで解析したチャートである。図6 Aで検出された反応生成物のピーク位置は、標品として加えたテオプロミンの位置と一致し、また酵素反応液にテオプロミンを添加しても1つのピークしか検出されなかった事から、MXMT1の融合蛋白質の酵素反応により、7-メチルキサンチンを基質としてテオプロミンが生成する事が示された。

【0021】

【発明の効果】本発明により、コーヒーアラビカにおけるテオプロミン合成酵素のポリペプチド及び当該ポリペプチドをコードする遺伝子が与えられた。テオプロミン合成酵素はカフェインの生合成に関与する酵素であり、当該酵素の遺伝子発現を抑制した形質転換植物を作製することにより、カフェインレスコーヒーを得ることができる。

【0022】

【配列表】

<110>出願人氏名: 奈良先端化学技術大学院大学長

<120>発明の名称: コーヒー属植物のテオプロミン合成酵素ポリペプチド及び当該ポリペプチドをコードする遺伝子

<160>配列の数: 8

<210>配列番号: 1

9

<2 1 1>配列の長さ：378

<2 1 2>配列の型：アミノ酸

<2 1 3>起源：Caffea arabica

<4 0 0>配列

MELQEVLHMN	EGERGDTSYAK	NASYNLALAK	VKPFLEQCIR	ELLRANLPNI	NKCIKVADLG	60
CASGPNTLLT	VRDIVQSIDK	VGQEEKNELE	RPTIQIFLND	LFQNDFNSVF	KLLPSFYRKL	120
EKENGRKIGS	CLISAMPGSF	YGRLFPEESM	HFLHSCYSVH	WLSQVPSGLV	IELGIGANKG	180
SIYSSKGCRP	PVQKAYLDQF	TKDFTTFRLI	HSKELFSRGR	MLTCICKVD	EFDEPNPLDL	240
LDMAINDLIV	EGLLEEEKLD	SFNIPFFTFS	AEEVKCIVEE	EGSCEILYLE	TFKAHYDAAF	300
SIDDDYPVRS	HEQIKAEYVA	SLIRSVEPI	LASHFGEAIM	PDLFHRLAKH	AAKVLJHMGKG	360
CYNLLIISLA	KKPEKSDV					378

<2 1 0>配列番号：2

<2 1 1>配列の長さ：1298

<2 1 2>配列の型：核酸

<2 1 3>起源：Caffea arabica

<4 0 0>配列

AGCAGTOGCA	ATTGGATTGT	CCTGCATATG	AATGGAGCTC	CAAGAAGTCC	TGCATATGAA	60
TGAAGGTGAA	GGCGATACAA	GCTAOGCAA	GAATGCATCC	TACAATCTGG	CTCTTGCCAA	120
GGTGAACCT	TTCCCTGAAC	AATGCATACG	AGAAATTGTTG	CGGGCCAACT	TGCCAACAT	180
CAACAAGTGC	ATTAAGTTG	CGGATTTGGG	ATGCGCTTCT	GGACCAAACA	CACTTTAAC	240
AGTGGGGAC	ATTGTGCAAA	GTATTGACAA	AGTTGCCAG	GAAGAGAAGA	ATGAATTAGA	300
ACGTCCACC	ATTCAGATTT	TTCTGAATGA	TCTTTCCAA	AATGATTCA	ATTGGTTTT	360
CAAGTTGCTG	CCAAGCTCT	ACCGAAACT	CGAGAAAGAA	AATGGACGCA	AGATAGGATC	420
GTGCCTAATA	AGCGCAATGC	CTGGCTCTT	CTACGGCAGA	CTCTTCCCCG	AGGAGTCCAT	480
GCATTTTTG	CACTCTTGT	ACAGTGTCA	TTGGTTATCT	CAGGTTCCCA	GCGGTTTGGT	540
GATTGAATTG	GGGATTGGTG	CAAACAAAGG	GAGTATTAC	TCTTCAAAG	GATGTCGTCC	600
GCCCGTCCAG	AAGGCATATT	TGGATCAATT	TACGAAAGAT	TTTACACCAT	TTCTAAGGAT	660
TCATTGAAA	GAGTTGTTT	CAOGTGGCG	AATGCTCTT	ACCTGCAATT	GTAAAGTAGA	720
TGAATTGAC	GAACCGAATC	CCCTAGACTT	ACTTGACATG	GCAATAAAACG	ACTTGATTGT	780
TGAGGGACTT	CTGGAGGAAG	AAAAATTGGA	TAGTTCAAT	ATTCCATTCT	TTACACCTTC	840
AGCAGAAGAA	GTAAAGTCA	TAGTTGAGGA	GGAAGGTCT	TGCGAAATT	TATATCTGGA	900
GACTTTTAAG	GCCCATTATG	ATGCTGCCCT	CTCTATTGAT	GATGATTACC	CAGTAAGATC	960
CCATGAACAA	ATTAAGACG	AGTATGTGGC	ATCATTAAATT	AGATCAGTT	ACGAACCCAT	1020
CCTCGCAAGT	CATTTTGAG	AAGCTTATTAT	GCCTGACTTA	TTCCACAGGC	TTGGGAAGCA	1080
TGCAGCAAAG	GTTCCTCCACA	TGGGCAAAGG	CTGCTATAAT	AATCTTATCA	TTTCTCTCGC	1140
CAAAAAGCCA	GAGAAGTCAG	ACGTGAAAAA	GTTTGTTTT	AGTTGGTTT	TGTGCCGTTG	1200
GGGGTCTTTC	GGGTATTGTC	GTTTGTATT	CGTATAAAA	GTGATGTCA	AGAATAAGAT	1260
ATTTAGTACA	ATATTTCA	AAAAAAAAA	AAAAAAA			1298

<2 1 0>配列番号：3

<2 1 1>配列の長さ：385

<2 1 2>配列の型：アミノ酸

<2 1 3>起源：Caffea arabica

<4 0 0>配列

MELQEVLHMN	GGEGEASYAK	NSSFNLVLA	KVKPVLEQCV	RELLRANLPN	INKCIKVADL	60
GCASGPNTLL	TWWDIVQSIDK	KVKQEMKNE	ERPTIQVFLT	DLFQNDFNSV	FMLLPSFYRK	120
LEKENGRKIG	SCLIAAMPGS	FHGRLFPEES	MHFLHSSYSL	QFLSQVPSGL	VTELGITANK	180

11

RSIYSSKASP PPVQKAYLDQ FTKDFTFLR MRSEELLSRG RMLLTCICKG DECDGPNTMD	240
LLEMAINDLV AEGRLGEEKL DSFNVPYTA SVEEVKOMVE EEGSFEILYL QTFKLRYDAG	300
FSIDDDCQVR SHSPVYSDEH ARAAHVASLI RSVYEPILAS HFGEAIIPDI FHRFATNAAK	360
VIRLGKGFY N LIISLAKKP EKSDI	385

<210>配列番号：4

<211>配列の長さ：1360

<212>配列の型：核酸

<213>起源：Caffea arabica

<400>配列

GTCCTGCATA TGAATGGAGC TCCAAGAAGT CCTGCATATG AATGGAGGGC AAGGCGAAC	60
AAGCTACGCC AAGAATTCA CTTCAATCA ACTGGTCTC GCCAAGGTGA AACCTGTCCT	120
TGAACAATGC GTACGGAAAT TGTTGGGGC CAACTTGCC AACATCAACA AGTGCATTAA	180
AGTTGCAGAT TTGGGATGCG CTTCGGGACC AAACACACTT TTAACCGTTT GGGACACTGT	240
ACAAAGTATT GACAAAGTTA AGCAAGAAAT GAAGAATGAA TTAGAACGTC CCACCATTC	300
GGTTTTCTG ACTGATCTT TCCAAAATGA TTCAATTG GTTTCTATGC TGCTGCCAG	360
CTTCTACCGC AAACTTGAGA AAGAAAATGG ACGCAAATAA GGATCGTGC TAATAGCCGC	420
AATGCCTGGC TCTTCCACG GCAGACTCTT CCCGGAGGAG TCCATGCATT TTTTACACTC	480
TTCTTACAGT CTTCAAGT TATCCAGGT TCCAGGGT TTGGTGAATG AATTGGGGAT	540
CACTGCGAAC AAAAGGAGCA TTTACTCTTC CAAAGCAAGT CCTCCGCGG TCCAGAAGGC	600
ATATTTGGAT CAATTACGA AAGATTTAC CACATTTTA AGGATGCGTT CGGAAGAGTT	660
GCTTTCACTG GCGCGAATGC TCCTTACTTG CATTGTAAA GGAGATGAAT GCGACGGCCC	720
GAATACCATG GACTTACTTG AGATGGCAAT AAACGACTTG GTTGCTGAGG GACGTCTGGG	780
GGAAAGAAAAA TTGGACAGTT TCAATGTTCC AATCTATACA GCTTCAGTAG AAGAAGTAAA	840
GTGCGATGTT GAGGAGGAAG GTTCTTTGA ATTATTTACAT TTGCGACACTT TTAAGCTCCG	900
TTATGATGCT GGCTTCTCTA TTGATGATGA TTGCGAAGTA AGATCCATT CCCAGTATA	960
CAGCGATGAA CATGCTAGAG CAGCGCATGT GGCATCATTAA ATTAGATCG TTTACGAACC	1020
CATCCTAGCA AGTCATTG GAGAAGCTAT TATACTGAC ATATTCACA GGTTTGCGAC	1080
GAATGCAGCA AAGGTTATCC GCTTGGCAA AGGCTCTAT AATAATCTTA TCATTTCTCT	1140
TGCCAAAAAA CCAGAGAAAGT CAGACATATA AAAGCTTGT TTTAGTTGGT TTTTGTGTTA	1200
TGGGTTGTT TCTGATAACGG GGAAAGGATT CAGTGGGTT GGGTTCTAT CGAGTATTG	1260
TACTTTTAT ATTATTAGTT GGTTGATAAT TATTATGTTA CATTGTTATA TTGTAATAA	1320
AAAGTGACGTA CAAAAATAAA ATATTTCAT AAAAAAAA	1360

<210>配列番号：5

<211>配列の長さ：385

<212>配列の型：アミノ酸

<213>起源：Caffea arabica

<400>配列

MELQEVLHMN GGEGDASYAK NSSFNQLVLA KVKPYLEQCV GELLRANLPN INKCIKVADL	60
GCASGPNTLL TVRDIVQSID KVRQEMKNEI ERPTIQVFLT DLFQNDNSV FMLLPSFYRK	120
LEKENGKRIG SCLIAAMPGS FHGRRLPPEES MHFLHSSYSL QFLSQVPSGL VTELGITANK	180
RSIYSSKASP PPVQKAYLDQ FTKDFTFLR IRSEELLSRG RMLLTCICKG DEFDPNTMD	240
LLEMAINDLV VEGHLEEKL DSFNVPYAA SVEELKCIVE EEGSFEILYL ETFKLRYDAG	300
FSIDDDCQVR SHSPVYSDEH ARAAHVASLL RSVYEPILAN HFGEAIIPDI FHRFATNAAK	360
VIRLGKGFY N LIISLAKKP EKSDI	385

13

<210>配列番号：6
<211>配列の長さ：1304
<212>配列の型：核酸
<213>起源：Caffea arabica
<400>配列

```

TTTAGCAGTC CCAATTGAT TTATGTACAA GTCTGCATA TGAATGGAGC TCCAAGAAGT 60
CCTGCATATG AATGGAGGG AAGGCGATGC AAGCTACGCC AAGAATTCTAT CCTTCAATCA 120
ACTGGTTCTC GCCAAGGTGA AACCTGTCCT TGAAACATGC GTAGGGGAAT TGTGCGGGC 180
CAACTTGCCC AACATCAACA AGTGCATTAA AGTTGCGGAT TTGGGATGCG CTTCCGGACC 240
AACACACATT TTAACAGTC GGGACATTGT ACAAAAGTATT GACAAGTTA GGCAAGAAAT 300
GAAGAATGAA TTAGAACGTC CCACCATTCGA GGTTTTCTG ACTGATCTTT TCCAAAATGA 360
TTTCAATTG GTTTCTATGT TGCTGCCAAG TTTCTACCGC AAACCTTGAGA AAGAAAATGG 420
ACGCAAGATA GGATGCGCC TAATAGCGC AATGCGTGC TCTTCCACG GCAGACTCTT 480
CCCCGAGGG TCAATGCACTT TTCTTACACTC TTCTTACAGT CTTCATTTT TATCCCAGGT 540
TOCCAGGGT TTGGTGACTG AATTGGGGAT CACTGCGAAC AAAAGGGAGCA TTACTCTTC 600
CAAAGCAAGT CCTCCGGCC TCCAGAAGGC ATATTTGGAT CAATTTAOGA AAGATTTTAC 660
CACATTTTA AGGATTCGTT CGGAAGAGTT GCTTTACAGC GGCGAATGC TCTTACTTG 720
CATTTGCAAA GGAGATGAAT TCGACGGCCC GAATACCATG GACTTACTTG AGATGGCAAT 780
AAACGACTTG GTTGTGAGG GACATCTGGA GGAAGAAAAA TTGGACAGTT TCAATGTTCC 840
AATCTATGCA GCTTCAGTAG AAGAATTAAA GTGCATAGTT GAGGGAGAAG GTTCTTTG 900
AATTTTGATC TTGGAGACTT TTAAGCTCG TGATGATGCT GGCTTCTCTA TTGATGATG 960
TTGCCAGTA AGATCCCAATT CCCCAAGAATA CAGCGATGAA CATGCTAGAG CAGCGCATGT 1020
GGCATCATTA CTTAGATCAG TTTACCGAAC CATCCCGCA AATCATTTTG GAGAAGCTAT 1080
TATACCTGAC ATATTCCACA GGTTTGGCAG GAATGCAGCA AAGGTTATCC GCTTGGCAA 1140
AGGCTTCTAT AATAATCTTA TCATTTCTCT TGCCAAAAAA CCAGAGAAAGT CAGACATATA 1200
AAAGCTTGT TATAGTTGGT TTTTGTGCTA TGGTTGTGTT TCTGATAACGG GGAAAGGATT 1260
TAGTGCAGTT GGGGTTCAAA AAAAAAAA AAAAAAAA AAAA 1304

```

<210>配列番号：7
<211>配列の長さ：372
<212>配列の型：アミノ酸
<213>起源：Caffea arabica
<400>配列

```

MELQEVLRMN GGEQDTSYAK NSAYNQLVLA KVKPYLEQCV RELLRANLPN INKCIKVADL 60
GCASGPNTLL TVRDIVQSID KVGQEKKNEL ERPTIQIFLN DLFPNDNSV FKLLPSFYRK 120
LEKENGKRIG SCLIGAMPGS FYSRLFPEES MHFLHSCYCL QWLSQVPSGL VTELGISTNK 180
GSIYSSKASR LPVQKAYLDQ FTKDFTTFLR IHSEELFSHG RMLLTCTCKG VELDARNAID 240
LLEMAINDLV VEGHLEEKL DSFNLPVYIP SAEEVKCIVE EEGSFEIYL ETFKVLYDAG 300
FSIDDEHIKA EYVASSVRRAV YEPILASHFG EAIIPDIFHR FAKHAAKVLP LGKGFYNNLI 360
ISLAKKPEKS DV 372

```

<210>配列番号：8
<211>配列の長さ：1316
<212>配列の型：核酸
<213>起源：Caffea arabica
<400>配列

```

CTTTGGCACT CCCAATTGAT TTATGTACAA AGTCTGCAT ATGAATGGAG CTCCAAGAAG 60
TCTCTGGGAT GAATGGAGGC GAAGGGGATA CAAGCTACGC CAAGAATTCA GCCTACAATC 120

```

15

AACTGGTCT CGCCAAGGTG AAACCTGTCC TTGAACAATG CGTACGGGAA TTGTTGCGGG 180
 CCAACTGCC CAACATCAC AAGTCATTA AAGTTGCGGA TTTGGGATGC GCTTCGGAC 240
 CAAACACACT TTTAACAGTT CGGGACATTG TCCAAAGTAT TGACAAAGTT GCCCAGGAAA 300
 AGAAGAACGTA ATTAGAACGT CCCACCATTC AGATTTTCT GAATGATCTT TTCCCAAATG 360
 ATTTCAATTC GGTTTCAAG TTGCTGCCA GCTTCTACCG CAAACTTGAG AAAGAAAATG 420
 GACGCCAAAT AGGATCGTC CTAATAGGGG CAATGCCCG CTCTTCTAC AGCAGACTCT 480
 TCCCCAGGGA GTCCATGCAT TTTTACACT CTTGTTACTG TCTTCATGG TTATCTCAGG 540
 TTCCCTAGCGG TTTGGTGAATGGGGA TCAGTACGAA CAAAGGGAGC ATTACTCTT 600
 CCAAAGCAAG TCGTCTGCC GTCAGAAGG CATATTGGA TCAATTACG AAAGATTTA 660
 CCACATTCTT AAGGATTCTA TCGGAAGAGT TGTTTCACA TGCCGAATG CTCTTACTT 720
 GCATTTGAA AGGAGTTGAA TTAGACGCC GGAATGCCAT AGACTTACTT GAGATGGCAA 780
 TAAACGACTT GGTTGTTGAG GGACATCTGG AGGAAGAAA ATTGGATAGT TTCAATCTTC 840
 CAGTCTATAT ACCTTCAGCA GAAGAAGTAA AGTCATAGT TGAGGAGGAA GTTCTTTG 900
 AAATTTATA CCTGGAGACT TTTAAGGTCC TTTACGATGC TGGCTCTCT ATTGACGATG 960
 AACATATTAA AGCAGACTAT GTTGCATCTT COGTTAGAGC AGTTTACGAA CCCATCCTCG 1020
 CAAGTCATTT TGGAGAAGCT ATTATACCTG ACATATTCCA CAGGTTTGCAG AACATGCAG 1080
 CAAAGGTCTT CCCCTGGGAA AGGGCTCT ATAATAATCT TATCATTCTT CTCGCCAAAA 1140
 AGCCAGAGAA GTCAAGCTG TAAAGTTG TTTTGTGTT GGGAAAGGA ATAAGTGCAG 1200
 TTGGGGGTCT TTGGGTATT GTGCTTTTA TATTATATTG TTTGTATCC GTAATAAAAG 1260
 TGGTGTGAA GAATAAGATA TTTGACATAT ATTATTTCA AAAAAAAA AAAAAA 1316

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、カフェイン生合成の経路を示す図である。

【図2】図2は、MTL1、MTL2、MTL3及びMXMT1より得たcDNAの塩基配列を示す図である。

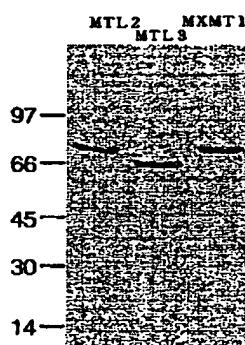
【図3】図3は、MXMT1、MTL2及びMTL3より得たアミノ酸配列のアラインメントを示す図である。

* 【図4】図4は、MTL2、MTL3及びMXMT1より得た融合蛋白質をSDS-PAGEで解析した結果を示す写真である。

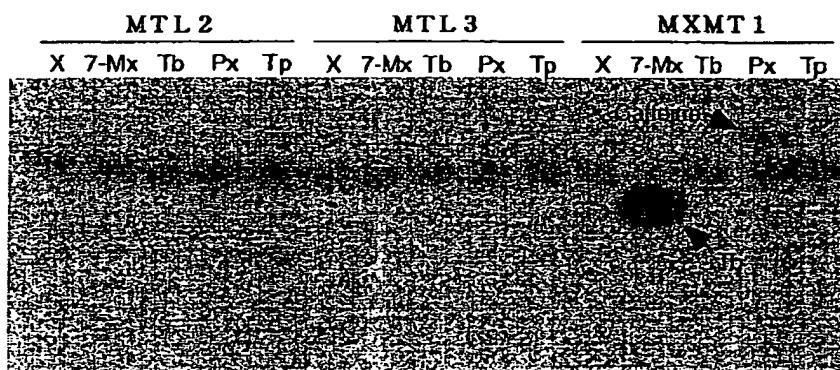
【図5】図5は、MTL2、MTL3及びMXMT1より得た融合蛋白質の酵素活性を、TLCで解析した結果を示す写真である。

【図6】図6は、MXMT1より得た融合蛋白質の酵素反応生成物をHPLCで同定した結果を示すチャートである。

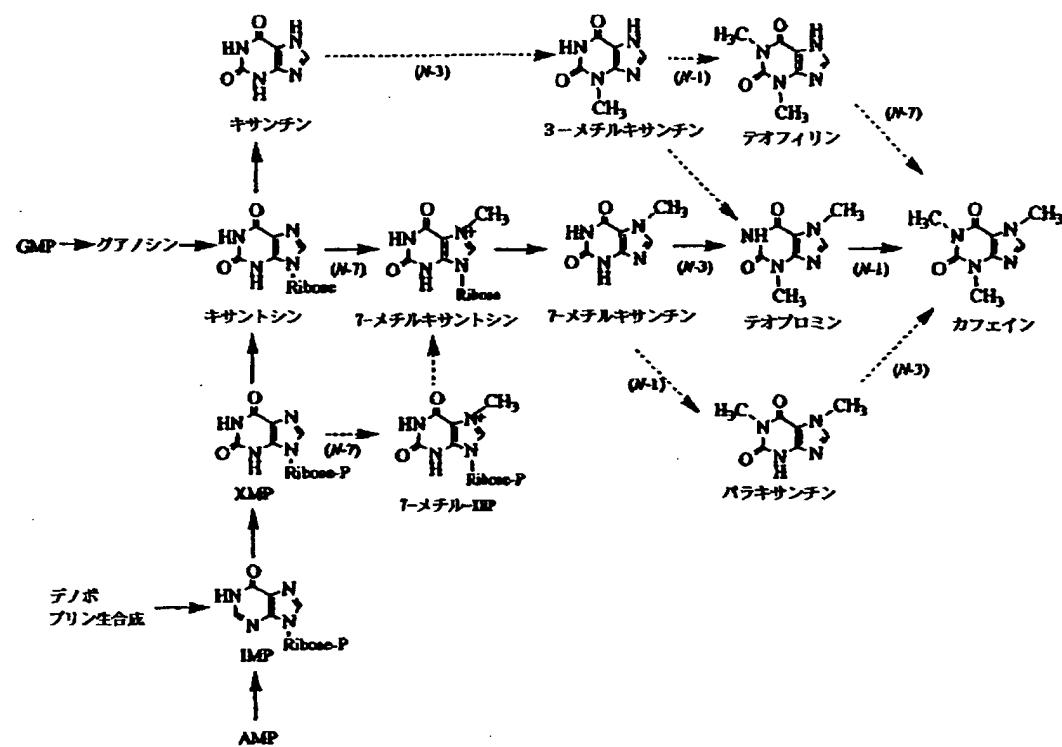
【図4】



【図5】



【図1】



【図2】

A

B

TTTAGCAGTC CCACTTCAAT TTATGACAA GCTCTGATA TGAATGGAE TCCAGAATG CTGGATATG AAGGAGGAA AGGCATCC
 AGCTTGCGC AGGAACTAT CCTTCATCA AGCTGATC GCGAGTGA AACCTCTG TTGAACTT CTGCGGAT TGTCGCGCC 98
 CAACTTCCG CACATCAAG ATGCTTAA ATGCTTGGT TTGGGTGCS CTTCGGAC AACACATCT TTGAGTC GCGAGCTT 100
 ACAGAATTTT GACAGATTA GCGGAGAT TGAATGAA TGAAGCTC CCACATCA GTTCTTGC AGTACTT GCGAAATTC 102
 TTCTACGGT TTTCATCT TTCTCTAA AGAATGAA AGAAGATG AGAGGAAAGA AGAGGAAAGA GATCTGCC TTAACTCC 104
 ATCTCTGGC TTTCCTGC GAGACCTT CCTGGAGAT TGAATGAA TTCTACGGT TTCTCTAA AGAATGAA AGAAGATG 106
 TTCCGGCTG GTTCTCTG AGATGGGGT CACTTCAAG AGAAAGCA TTACTTCG CAAAGCTG CTCCTGGC TTGAGAGC 108
 ATTTGGATG CAAATTAGA AGATTTAC CAACTTCAAG AGAAAGCA TTACTTCG CAAAGCTG CTCCTGGC TTGAGAGC 110
 CTTGGGAAAGGAGGAT TGAACCGCC GAATCACTG GAATCTTC AGATGAGC AGAACCTG TTGTTGAG GAGATCTTC 112
 GGAGAAGAA TTGGCAAGT TTAACTTCG ATGATCAAGA ATGCTTCA AGTACAGT TTGAGATG GCGGAGGAA TTCTTCTGA 114
 ATTTTCTAC TTGGAGCTT TTAGETCGS TTGATGCTG TTGATGCTG TTGATGCTG TTGAGATG AGATCTTG CCCCCAGATA 116
 TATACCTGAC ATATTCAGA GGGTTCAGA GCGACAGT TTGATGCTG TTGAGATG AGATCTTG TTACAGCA CAACTGGAA AGACAGATC 118
 TCTCAAAA CGAGAGAT CAGCTCTTGA AGCTCTTG TTCTTGCTG TTGTTGTTG TTGATGCTG GCGAGGTT 120
 TTGCTGGGT GGGGGGGT AAAAAAAA AAAAAAAA AATA 122

C

CTTGGGCGTT	CCCATTTGCA	TTCATATGCA	AATGCCGCGAT	AGTGTGGGGC	CTCCAGGAG	TCTTGCGGAT	GATATGGGGC	GAAGGGCGAA	99
CACCTTCA	CAAGATGCA	GGCTACATC	AACTGGCT	CCSAGGATG	AAAGCTTGC	TGAGAACATG	CTACAGGAA	TTTTGGGGAT	189
CAACTTCT	CAATCAGCA	ATACCGATC	ATGGTGGG	TGGGGGAG	GCTTCTGAG	CAACAGAC	TTCAGGAT	GGGCGATTC	279
ATTCTTAT	TGAGAAGT	GGCGAGGA	AMAGAAGGA	ATTAAGGCT	CCCACTATG	AGATTTGAT	GTATGATCT	TTCCAGAA	366
ATTTCATC	GGTTTCTT	TTGGCGAA	GTCTTCAAC	CCAGCTTCA	AMAGAAGGA	GGAGGAAAT	GCGGAAATG	CTATAGGGG	459
CATTCCTG	CTTCTTCTT	AGAGAGCTT	TCCTCCGGAT	TCCTCCAT	TTTTCATG	CTTGTGATC	TTTCAATGC	TTTATGTC	546
TTTCTTCTG	TTTGTGACT	GAATGGCT	TCAGTAGG	TCAGGAGG	ATTCTTCCT	CAACAGGG	TCGTTCTC	GGGCGAGG	620
CATTTTGT	TTTATTTC	AMGGTTTCA	CCCATTTG	AAAGTTCT	GGATGAGG	TGTTGGGG	TGTTGGGGAT	CTCTCTTA	720
GGATTTTG	AGGGTTGG	TTAGGGCC	GGATGCGT	AACTTACT	AACTTCTA	TCAGACCA	CTTGGGGTC	GGACATTCGG	816
AGGAGGAA	TTAGTTAGT	TTCTACATC	CGCATTTA	AACTTCA	GGAGGAGG	AGTCGATC	TCAGGAGG	GGTTCTTC	906
AAATTTTC	CTGTGAGG	TTTATGGTC	TTTACAGTC	TTTCTTCT	ATTTGCGAT	ACATTTATG	ACAGGTTCT	GTGTCATCT	996
CGTGTGAG	CCCTTGGC	CCATCTAC	CGCATGG	TCGGAGGCT	ATTTACATC	ATCTATCA	TCATTTCA	AGGCTTAC	1086
CAAACTTG	CCCTTGGC	AAAGCTTC	ATAATTAATC	TTATCTT	CTGGCGAA	ACACCAKS	CTGCGCGT	TAAGGTTT	1170
TTTTTGTG	GGGGAGGG	ATATGGCT	TTGGGGCT	TCCTGGGAT	GGCTTTTA	TATTATATG	TTTTGGTC	GTATTAAG	1250
TGTTGCTG	GAATGGAA	TTCATCAT	ATTTTTTC	AAAAAAA	AAAAAA	GTGCTTTA	TATTATATG	TTTTGGTC	1315

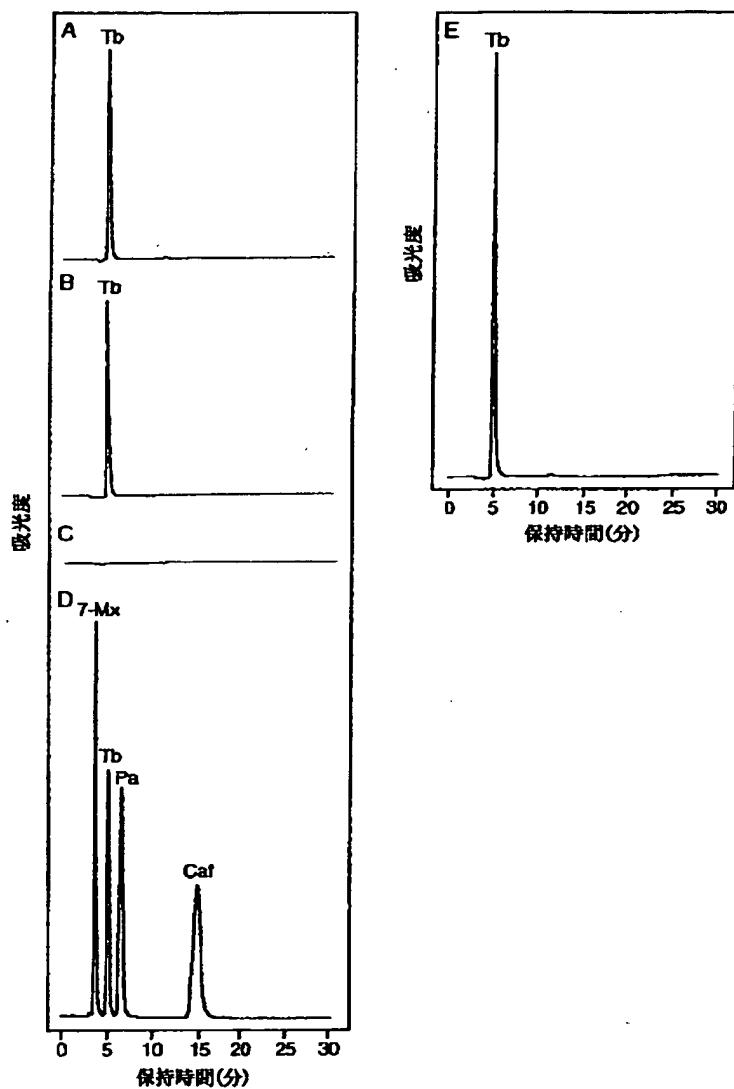
D

ACAGCTTGGAA ATTTCATGTT CCTCTGATAT ATTCGGCGC CAGAACGGC TCGATATAA TGAGGCTGA GCGATACAA GCCTACCA	98
GAATGCCGC TAKATGTCG CCTCTGGAC GTGGAGCTT CCTCCATGGC ATTCGGCGC AGATGTTTG CGCGGCGAT TTGCCCCAA	180
CAGACGGT ATTATGGT CCGGGTGG ATGGCTGTG GCGAACAAAC CACTTITGG ATTCGGCGC ATTCGGCGA GTTGGCGCA	278
ATGTECCCG CAGAACGGC ATGGATGTTG AGCGCCCAAC ATTGGATTT CCTGGATGG TTCTTCCAA AGATGGTCA ATTGGGTTT	358
CAGCTGGT CGGGATGGT ACCCGAACAT CGAGAACGGC ATGGAGGGC AGATGGGGC TGCGCTTA AGCGGATC CTGGGGTT	458
CTACGGCGA CCTCTCCCG AGGGATCGAT CGATTTGGG CACTCTGGT ACAGTGGTC TGTTGATCT CAGGGTCCCA GGCGTTGGT	548
GTATGGGGG GGTGGGGG CGAACGGC GAGGATGGT TETTCGGAA GTGGGGGG CGCGGGCG AGCGGATC TTGGGGAT	638
TAGCGGGG TTTTCCGGG TCTCTGGG TCTCTGGG TCTCTGGG TCTCTGGG TCTCTGGG TCTCTGGG TCTCTGGG	728
TTGTTGGGG CGGGGGGG CCTCTGGGG ATTCGGGG CGATTTGGG AGCTGGGG TTGGGGGG TTGGGGGG AMMATTGGGG	818
TAGTTGGGG ATTCGGGG TTGGGGGG ATCCAGGGAA GGAAAGGGG TTGGGGGG GGAGGGGG TCGGGGGG TATATCTGGGG	908
GCTTGGGG GCGGGTGG ATGGCTGTG CCTCTGGGG ATGGATGGG CACTCTGGG TGCGCTTA CGGGGGGG ATTAAAGGGG	998
ATCTTTGGG AGCTGGGG AGCGGGGG CCTGGGGGG ATGGGGGG AGGGGGGG TTGGGGGG TTGGGGGG TTGGGGGG	1898
TGCGGGGG CCTCTGGGG TTGGGGGG CGGGGGGG ATGGGGGG TTGGGGGG TTGGGGGG TTGGGGGG AGGGGGGG	1778
GTTGGGGG ATTGGGGG TTGGGGGG CGGGGGGG CCTGGGGGG ATGGGGGG TTGGGGGG TTGGGGGG TTGGGGGG	1268
ATTCTGGGG ATTGGGGG AAAAAAAA AAAAAAAA	1258

【図3】

MXMT1	MILQEVLPNEEGGDTSYARNASIN-LALAKVKPFLEOTIRELLRANTEN	49
MTL1	:::::::G:::E:::S:P:Q:V:::::V:::::V::::: 50	
MTL2	:::::::G:::A::::S:P:Q:V:::::V:::::VG::::: 50	
MTL3	::::::R:::G:::::SA:::Q:V:::::V:::::V::::: 50	
MXMT1	INRCIKWADLGCGAGENILIVSGIVQSTORQGQEENELERPTIQIFIN	99
MTL1	:::::::::::::N:T:::::K:M::::::::::V:::T 100	
MTL2	:::::::::::::R:M::::::::::V:::T 100	
MTL3	:::::::::::::K::::::::::: 100	
MXMT1	DIFQDENSVPKILLPSYRKLEXENGKKGSCLSAMPGSFYGRLLPPEES	149
MTL1	::::::M:::::::::::A::::::::::H:::::::::: 150	
MTL2	::::::M:::::::::::A::::::::::H:::::::::: 150	
MTL3	::::::P:::::::::::S::::::::::: 150	
MXMT1	MPLHSCYSVHMLSQVPSCLVIELGIGANNGSTYSSRGCPFVQAYLDQ	199
MTL1	::::::S:::LQF::::::::::T:::::R:::::ASP:::::::::: 200	
MTL2	::::::S:::LQF::::::::::T:::::R:::::ASP:::::::::: 200	
MTL3	::::::CLQ::::::::::T:::::ST::::::::::AS:L:::::::::: 200	
MXMT1	PICDPTTFLRHSKGLFSPGMWLTCKWDIFDFEPPLDLMMAINLI	249
MTL1	::::::MR:E:::L:::::::::::G:::C:G:::TM:::E:::::V 250	
MTL2	::::::R:E:::L:::::::::::G:::C:::TM:::E:::::V 250	
MTL3	::::::E:::H::::::::::GE:L:AR:AI:::E:::::V 250	
MXMT1	VEGLLAEKEKDSPNIPFPIPSAEEVKCIVVERGSCETLNLEDPRHMDAA	299
MTL1	A:::R:G:::::V:LY:A:V:::M:::::F:::::Q:::LR:::G 300	
MTL2	:::H::::::::::V:LYAA:V:::L::::::::::F::::::::::LR:::G 300	
MTL3	:::H::::::::::L:VYL::::::::::F::::::::::VL:::G 300	
MXMT1	PSIDEDYPVSH-----EQKABWASLIRSVPBILASHFGEADMEDL	343
MTL1	::::::CQ:::::SPVISD:HR:AH:::::::::::I:::I 350	
MTL2	::::::CQ:::::SPVISD:HR:AH::::L::::::::::N:::::I:::I 350	
MTL3	::::::EH-----SV:A:::::::::::I:::I 337	
MXMT1	EPRLAKEAKVLEMGRGYNNLITISLAKERPSDV	376
MTL1	:::P:IN::::IRL:::F:::::::::::I 365	
MTL2	:::P:IN::::IRL:::F:::::::::::I 365	
MTL3	:::P::::::::::PL:::F::::::::::: 372	

【図6】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7

C 12 R 1:91)
 (C 12 N 9/00
 C 12 R 1:91)

識別記号

F I
 C 12 N 15/00
 5/00
 C 12 R 1:91)

マークド(参考)

ZNAA
 C

Fターム(参考) 2B030 AB03 AD08 CA14
4B024 AA05 AA08 BA07 BA79 CA04
CA07 CA09 CA20 DA02 DA06
EA04 GA11 GA19 HA03 HA13
HA14
4B050 CC01 CC03 DD13 EE01 FF14E
LL02 LL05
4B065 AA26X AA88X AA88Y AB01
AC14 AC20 BA02 BB01 BC03
BD01 BD14 CA27 CA41 CA53